

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
1 mars 2001 (01.03.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 01/14408 A3**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C07K 1/00,  
1/107

(74) Mandataires : VIALLE-PRESLES, Marie-José etc.;  
Cabinet Orès, 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR00/02336

(22) Date de dépôt international : 18 août 2000 (18.08.2000)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
99/10626 19 août 1999 (19.08.1999) FR  
99/15342 6 décembre 1999 (06.12.1999) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : INSTI-  
TUT PASTEUR DE LILLE [FR/FR]; 1, rue du Professeur  
Calmette, Boîte Postale 245, F-59019 Lille Cedex (FR).  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris  
Cedex 16 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : BONNET,  
Dominique [FR/FR]; 73, avenue Marx Dormoy, F-59000  
Lille (FR). MELNYK, Oleg [FR/FR]; 9, rue Gabriel Péri,  
F-59370 Mons en Baroeul (FR). GRAS-MASSE, Hélène  
[FR/FR]; 321 La Rosière, F-59710 Merignies (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,  
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,  
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,  
MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,  
GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(88) Date de publication du rapport de recherche  
internationale: 30 août 2001

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abrégiactions" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: METHOD FOR COUPLING, IN SOLUTION, A PEPTIDE WITH AT LEAST ANOTHER COMPOUND AND USES  
THEREOF

(54) Titre : PROCEDE DE COUPLAGE, EN SOLUTION, ENTRE UN PEPTIDE ET AU MOINS UN AUTRE COMPOSE ET  
SES APPLICATIONS

(57) Abstract: The invention concerns a method for coupling a peptide with at least a compound A, of the non-peptide type, bearing  
a function selected among the group consisting of carboxylic acid functions and alcohol functions. The invention is characterised  
in that said coupling comprises a step which consists in producing, in solution, a hydrazide bond between said peptide and said  
compound A. The invention also concerns modified peptides essentially formed by a peptide bound by a hydrazide bond to at least  
a compound A as defined above, such as a lipid, a sugar, an alcohol or a fluorescent marker, as well as the uses of said modified  
peptides. The invention further concerns the use of N,N'-tri(Boc)hydrazinoacetic and N,N'-di(Boc)hydrazinoacetic acids to func-  
tionalize a peptide with a  $\alpha$ -hydrazinoacetic group.

(57) Abrégé : La présente invention est relative à un procédé de couplage entre un peptide et au moins un composé A, de nature  
non peptidique, portant une fonction sélectionnée dans le groupe constitué par les fonctions acide carboxylique et les fonctions al-  
cool, caractérisé en ce que ledit couplage comprend une étape de réalisation, en solution, d'un lien hydrazide entre ledit peptide et  
ledit composé A. La présente invention est également relative à des peptides modifiés essentiellement constitués d'un peptide lié,  
par un lien hydrazide, à au moins un composé A tel que défini ci-dessus, tel qu'un lipide, un sucre, un alcool ou un marqueur de  
fluorescence, ainsi qu'aux applications de ces peptides modifiés. La présente invention est, en outre, relative à l'utilisation des acides  
N,N'-tri(Boc)hydrazinoacétique et N,N'-di(Boc)hydrazinoacétique pour fonctionnaliser un peptide par un groupement  $\alpha$ -hydrazi-  
noacétique.

WO 01/14408 A3

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PC 00/02336A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C07K1/00 C07K1/107

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>O MELNYK ET AL.: "Synthesis of lipopeptides using hydrazone chemical ligation" JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH., vol. 52, no. 9, September 1998 (1998-09), pages 180-184, XP000774264 MUNKSGAARD INTERNATIONAL PUBLISHERS, COPENHAGEN., DK ISSN: 1397-002X cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">--- -/-</p>	11-17

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☐ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 February 2001

Date of mailing of the international search report

14/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Masturzo, P

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/02336

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>C KLINGUER ET AL.: "Synthesis of hydrazinopeptides using solid-phase N-amination. Application to chemical ligation." TETRAHEDRON LETTERS, vol. 37, no. 40, 1996, pages 7259-7263, XP002140473 OXFORD GB cited in the application the whole document</p>	11-17
T	<p>D BONNET ET AL.: "Synthesis of hydrazinopeptides using solid-phase N-electrophilic amination: extension to the Fmoc/tert-butyl strategy and chemistry of the N-N bond in strong acid media." JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH., vol. 54, no. 9, October 1999 (1999-10), pages 270-278, XP000849311 MUNKSGAARD INTERNATIONAL PUBLISHERS, COPENHAGEN., DK ISSN: 1397-002X the whole document</p>	11-17
T	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 132, no. 17, 24 April 2000 (2000-04-24) Columbus, Ohio, US; abstract no. 222853, D BONNET ET AL.: "Chemoselective acylation of hydrazinopeptides; a novel and mild method for the derivatization of peptides with sensitive fatty acids." XP002140475 &amp; TETRAHEDRON LETTERS, vol. 41, no. 1, January 2000 (2000-01), pages 45-48, OXFORD GB abstract</p>	1-17
X	<p>O MELNYK ET AL.: "Synthesis of lipopeptides using hydrazone chemical ligation" PEPT. 1998, PROC. EUR. PEPT. SYMP., 25TH MEETING DATE 30-8 TO 6-9-1998. EDITORS: S. BAJUSZ &amp; F. HUDECZ, 1999, pages 108-109, XP002161584 Budapest, HU the whole document</p>	11-17

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

D      nde internationale No  
PCT      00/02336

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**  
CIB 7      C07K1/00      C07K1/107

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 7      C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)  
CHEM ABS Data

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>O MELNYK ET AL.: "Synthesis of lipopeptides using hydrazone chemical ligation" JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH., vol. 52, no. 9, septembre 1998 (1998-09), pages 180-184, XP000774264 MUNKSGAARD INTERNATIONAL PUBLISHERS, COPENHAGEN., DK ISSN: 1397-002X cité dans la demande le document en entier</p> <p style="text-align: center;">---      -/--</p>	11-17

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

**° Catégories spéciales de documents cités:**

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

27 février 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

14/03/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Masturzo, P

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>C KLINGUER ET AL.: "Synthesis of hydrazinopeptides using solid-phase N-amination. Application to chemical ligation."  TETRAHEDRON LETTERS,  vol. 37, no. 40, 1996, pages 7259-7263,  XP002140473  OXFORD GB  cité dans la demande  le document en entier</p>	11-17
T	<p>D BONNET ET AL.: "Synthesis of hydrazinopeptides using solid-phase N-electrophilic amination: extension to the Fmoc/tert-butyl strategy and chemistry of the N-N bond in strong acid media."  JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH.,  vol. 54, no. 9, octobre 1999 (1999-10),  pages 270-278, XP000849311  MUNKSGAARD INTERNATIONAL PUBLISHERS,  COPENHAGEN., DK  ISSN: 1397-002X  le document en entier</p>	11-17
T	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 132, no. 17,  24 avril 2000 (2000-04-24)  Columbus, Ohio, US;  abstract no. 222853,  D BONNET ET AL.: "Chemoselective acylation of hydrazinopeptides; a novel and mild method for the derivatization of peptides with sensitive fatty acids."  XP002140475  &amp; TETRAHEDRON LETTERS,  vol. 41, no. 1, janvier 2000 (2000-01),  pages 45-48,  OXFORD GB  abrégé</p>	1-17
X	<p>O MELNYK ET AL.: "Synthesis of lipopeptides using hydrazone chemical ligation"  PEPT. 1998, PROC. EUR. PEPT. SYMP., 25TH  MEETING DATE 30-8 TO 6-9-1998. EDITORS: S.  BAJUSZ &amp; F. HUDECZ,  1999, pages 108-109, XP002161584  Budapest, HU  le document en entier</p>	11-17